

Закключение. Разработана биосовместимая нано-система доставки лекарственных препаратов с помощью наночастиц (HA-DOX: CS). Проникновение наночастиц в клетки продемонстрировано с помощью методов многофункциональной микроскопии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ:

1. Shahidi F., Synowiecki J., Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards // J. Agric. Food Chem., 1991, Vol.39. P. 1527-1532.
2. Berger J., Reist M., Mayer J.M., Felt O., Gurny R., Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications // Eur. J. Pharm. Biopharm., 2004, Vol.57. P. 35–52.
3. Almond A., Hyaluronan //Cell Mol. Life Sci., 2007, Vol. 64. № 13. P. 1591–1596.
4. Ossipov D.A., Nanostructured hyaluronic acid-based materials for active delivery to cancer // Expert Opin. Drug Delivery, 2010, Vol. 7. № 6. P. 681-703.
5. Day A.J., Prestwich G.D., Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant //J. Biol. Chem., 2002, Vol. 277. P. 4585–4588.
6. Aruffo A., Stamenkovic I., Melnick M., Underhill C.B., Seed B., CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate //Cell, 1990, Vol. 61. № 7. P. 1303–1313.
7. Choi K.Y., Saravanakumar G., Park J.H., Park K., Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: interfacial interactions with proteins in cancer // Colloids Surf. B. Biointerface, 2012, Vol. 99. P. 82–94.
8. Kakizaki I., Ibori N., Kojima K., Yamaguchi M., Endo M., Mechanism for the hydrolysis of hyaluronan oligosaccharides by bovine testicular hyaluronidase // FEBS Journal, 2010, Vol. 277. P. 1776 –1786.
9. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Yu., Korchagin D.V., Shilov G.V., Knyaz'kina E.A., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V., Nitrosyl iron complexes with enhanced NO releasing ability: synthesis, structure and properties of new type of salts with DNIC cations $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$ //New J. of Chem., 2015, Vol. 39. P. 1022-1030.
10. Zhang X., Broderick M.P., Amperometric detection of nitric oxide //Modern aspects of immunology, 2000, Vol. 1. № 4. P.160–165.
11. Schreer A. , Tinson C., Sherry J.P., Schirmer K., Application of Alamar blue/5-carboxyfluorescein diacetate acetoxymethyl ester as a noninvasive cell viability assay in primary hepatocytes from rainbow trout // Anal. Biochem., 2005, V. 344. P. 76–85.

ВЛИЯНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ СУБСТРАТОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ НОРМАЛЬНЫХ И РАКОВЫХ КЛЕТОК INFLUENCE OF THE NANOSTRUCTURED SUBSTRATES ON THE PROLIFERATION OF NORMAL AND CANCER CELLS

Багров Д.В.^{1,2}, Семина С.Е.³, Попов В.В.¹, Павлова Е.Р.², Клинов Д.В.², Шайтан К.В.¹
Bagrov D.V., Semina S.E., Popov V.V., Pavlova E.R., Klinov D.V., Shaitan K.V.

¹ Россия, МГУ имени М.В.Ломоносова, dbagrov@gmail.com

² Россия, ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, lizapavlova6@gmail.com

³ Россия, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, s.e.semina@gmail.com

Белки внеклеточного матрикса организованы в многоуровневые структуры с характерным размером от ~10 нм до ~1 мкм [1]. Морфология и механические свойства матрикса влияют на состояние клеток наравне с биохимическими факторами. Наиболее

известный пример такого влияния – это контактное ориентирование; многие типы клеток при культивировании на анизотропном субстрате вытягиваются вдоль выделенного направления, и мигрируют преимущественно вдоль него [2]. Структурные и механические параметры субстрата влияют на пролиферацию клеток [1], причем механизмы этого влияния не до конца изучены.

Раковые клетки обычно менее чувствительны к влиянию рельефа субстрата, чем нормальные [3]. В данной работе мы сравнивали пролиферацию клеток аденокарциномы молочной железы и нормальных клеток молочной железы (MCF-7 и MCF-10A) на подложках с различным рельефом. Мы использовали две подложки с рельефом прямоугольной формы (период 1.70 ± 0.05 мкм и 10.00 ± 0.15 мкм, глубина бороздок 350 ± 20 нм и 320 ± 20 нм соответственно, рельеф сформирован на поверхности голографической пленки на основе полиэтилентерефталата), а также нетканые подложки из полилактида (ПЛА), сформированные методом электроспиннинга, состоящие из случайно и параллельно уложенных волокон. Изображения подложек, полученные методами атомно-силовой и сканирующей электронной микроскопии, представлены на рис 1. В контрольных экспериментах использовали подложки с гладкой поверхностью, все подложки покрывали полилизинном для улучшения клеточной адгезии.

Пролиферацию клеток MCF-7 и MCF10A, выращенных на перечисленных подложках, исследовали с помощью МТТ-теста на 1, 3 и 4 сутки. Оптическую плотность, измеренную при выполнении МТТ-теста (она пропорциональна метаболической активности клеток, ее используют как меру количества клеток), усредняли по результатам измерений на четырех идентичных образцах. МТТ экстрагировали с помощью ДМСО; чтобы исключить влияние адсорбции реагента МТТ подложкой, мы измеряли величину этой адсорбции в контрольном эксперименте и корректировали значения оптической плотности. Пролиферация клеток MCF-10A на неориентированных волокнистых подложках из ПЛА была ниже, чем на подложках других типов (рис. 2 А). Кроме того, на 4 сутки культивирования количество клеток MCF-10A на ориентированных волокнах было сравнительно низким. Таким образом, пролиферация клеток на подложке, состоящей из нановолокон, затруднена, причем этот эффект проявляется, в первую очередь, на неориентированных волокнах. Это может быть связано с тем, что волокна не обеспечивают клеткам достаточную площадь для прикрепления [4].

Как и ожидалось [3], раковые клетки MCF-7 были менее чувствительны к рельефу подложки, но на неориентированных волокнах они также пролиферировали хуже, чем на других субстратах (Рис. 2 Б).

Итак, в нашей работе было обнаружено, что субстрат, состоящий из хаотично уложенных электроформованных волокон не обеспечивают пролиферации нормальных клеток. Этот вывод согласуется с работой [5] и противоречит работе [6] (в ней описано снижение пролиферации мышинных миобластов C2C12 на подложке из ориентированных волокон ПЛА).

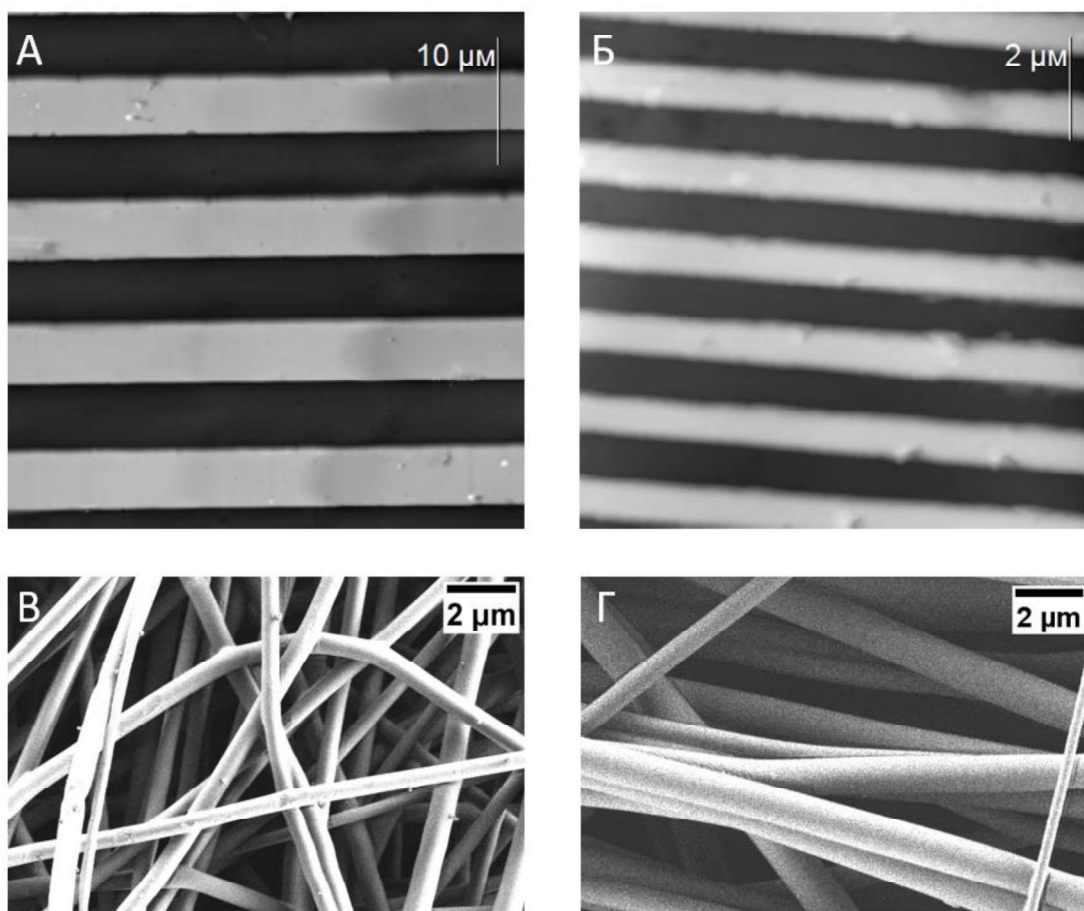


Рис.1 Изображения наноструктурированных подложек, использованных в данной работе: А – микрорельеф с периодом 1,7 мкм, Б – микрорельеф с периодом 10 мкм, В – случайно уложенные волокна ПЛА, Г – ориентированные волокна ПЛА.

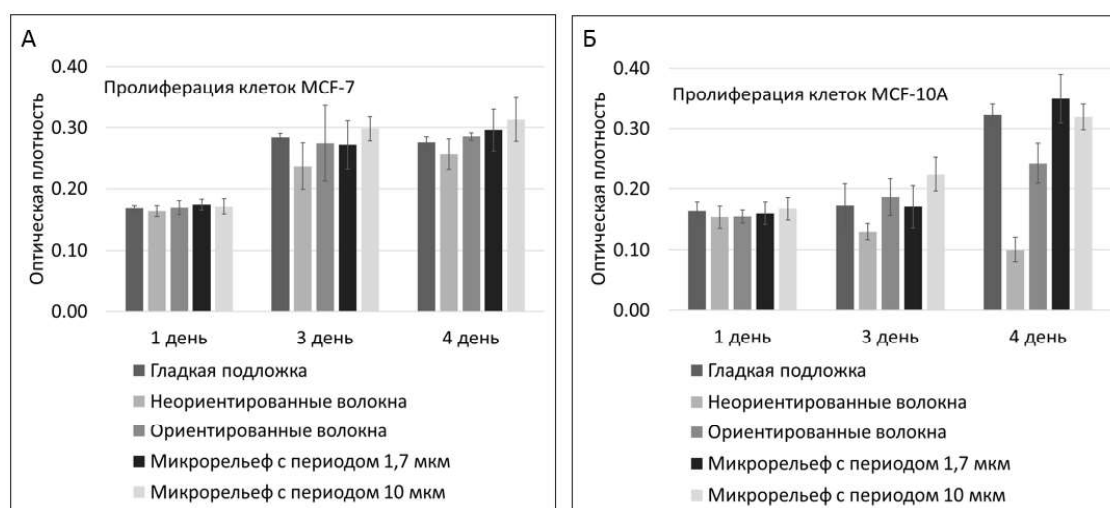


Рис.2 Данные о пролиферации клеток, полученные методом МТТ: А – клетки MCF-10A, Б – клетки MCF-7. Планки погрешностей показывают стандартные отклонения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект 18-29-09099мк.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ:

1. Kim, D.H., Provenzano, P.P., Smith, C.L., Levchenko, A., Matrix nanotopography as a regulator of cell function // J. Cell Biol., 2012, Vol. 197, p. 351–360.

2. Zhou, F., Yuan, L., Huang, H., Chen, H., Phenomenon of “contact guidance” on the surface with nano-micro-groove-like pattern and cell physiological effects // Chinese Sci. Bull., 2009, Vol. 54, p. 3200–3205.
3. Chaudhuri, P.K., Pan, C.Q., Low, B.C., Lim, C.T., Topography induces differential sensitivity on cancer cell proliferation via Rho-ROCK-Myosin contractility // Sci. Rep., 2016, Vol. 6, p. 1–9.
4. Bashur, C.A., Dahlgren, L.A., Goldstein, A.S., Effect of fiber diameter and orientation on fibroblast morphology and proliferation on electrospun poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) meshes. // Biomaterials, 2006, Vol. 27, p. 5681–8.
5. Gaharwar, A.K., Nikkhah, M., Sant, S., Khademhosseini, A., Anisotropic poly (glycerol sebacate)-poly (ϵ -caprolactone) electrospun fibers promote endothelial cell guidance // Biofabrication, 2014, Vol. 7, p. 015001.
6. Huang, N.F., Patel, S., Thakar, R.G., Wu, J., et al., Myotube Assembly on Nanofibrous and Micropatterned Polymers // Nano Lett., 2006, Vol. 6, p. 537–542.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВВЕДЕНИЯ ПУРОЛАЗЫ НА СТРУКТУРУ ПЛЕНОК ПОЛИГЛИКОЛИДЛАКТИДА

RESEARCH OF THE INFLUENCE OF PUROLASE ADMINISTRATION ON THE STRUCTURE OF POLYGLYCOLIDLACTIDE FILMS

Баикин А.С., Каплан М.А., Колмакова А.А., Березина Н.В.

Baikin A.S., Kaplan M.A., Kolmakova A.A., Berezina N.V.

*Россия, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской Академии наук, e-mail:
baikinas@mail.ru*

Воздействие лекарственных препаратов во многих случаях необходимо в конкретной области различных систем жизнедеятельности человека: пищеварительной, сердечно-сосудистой, выделительной и др. Поэтому в мире ведется множество исследований по возможным путям доставки лекарственного препарата непосредственно к требуемой зоне воздействия и в требуемой концентрации. Перспективным направлением является создание на основе полимерных биodeградируемых материалов систем контролируемой доставки лекарственных форм. За счет локального высвобождения лекарственных препаратов можно избежать проблем, возникающих при иных способах доставки, а так же улучшить эффективность терапии в целом. Системы контролируемой доставки лекарственных форм могут использоваться для покрытия имплантатов, в частности стентов и КАВА-фильтров. Применение биodeградируемых полимерных покрытий с возможностью контролируемого высвобождения лекарственного препарата способно снизить или полностью устранить ряд послеоперационных осложнений в зоне имплантации: образование повторного сужения-рестеноза, возникновение воспалительной реакции, тромбоза и др. Эти осложнения приводят к повторному хирургическому вмешательству и замене имплантата, что опасно для пациента[1-4].

К системам контролируемой доставки лекарственных форм предъявляется целый комплекс требуемых свойств: атравматичность, биосовместимость, заданная скорость и время биodeградации, ряд необходимых физико-химических и механических свойств. Одним из возможных полимерных материалов для создания таких систем является сополимер из сложных эфиров гликолевой кислоты (гликолида) и молочной кислоты (D,L-лактида) –